

## ドクゼリ (*Cicuta virosa*) の中枢毒性C17-多価不飽和アルコールの薬学的研究

著者	上井 幸司
号	265
発行年	1999
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10097/15454">http://hdl.handle.net/10097/15454</a>

氏 名 (本籍)                    上                    井                    幸                    司

学 位 の 種 類                    博                    士                    (薬                    学)

学 位 記 番 号                    薬 博 第                    2 6 5                    号

学位授与年月日                    平 成 12 年 3 月 23 日

学位授与の要件                    学位規則第 4 条第 1 項該当

研究科専門課程                    東北大学大学院薬学研究科  
(博士課程) 薬学専攻

学 位 論 文 題 目                    ドクゼリ (*Cicuta virosa*) の中枢毒性 C<sub>17</sub>-多価不飽和  
アルコールの薬学的研究

論文審査委員                    (主 査)  
教授 大 島 吉 輝                    教授 佐 藤                    進

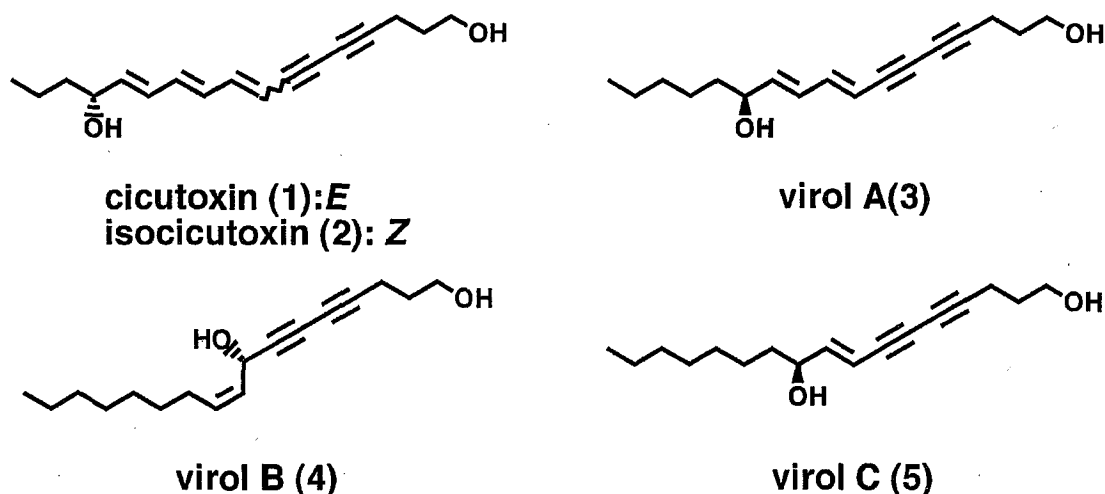
教授 小笠原 國 郎

# 論文内容要旨

## 序

セリ科の有毒植物ドクセリ (*Cicuta virosa*) は、若芽が食用のセリと酷似しているために、誤食による中毒事故がしばしば発生する。ヒトや動物がその根茎を摂取すると、強直性及び間代性痙攣が引き起こされ、呼吸麻痺により死に至ることもある。

ドクセリからは、Anet ら<sup>1)</sup>により cicutoxin (1) が毒成分として単離され、その平面構造が明らかにされた他、数種の C<sub>17</sub>-多価不飽和アルコールが単離・構造決定されている<sup>2,3)</sup>。ところで、毒成分 cicutoxin (1) は化学的に不安定なため、その薬理作用の作用機構に関しては十分な研究がなされていない。そこで、cicutoxin (1) やその類縁体の毒性を化学および薬理学の両方面から検討した。身近なところに存在する植物であるドクセリの強力な毒性を明らかにすることは、ドクセリを植物科学の立場から解明するにとどまらず、痙攣に関与する新たな神経系の発見や新しいタイプの抗痙攣薬の情報を提供する可能性が高い。



## 第1章 ドクゼリに含まれる多価不飽和アルコールの単離と構造<sup>4)</sup>

ドクゼリには、これまでに報告されている化合物以外にも毒性発現の作用機構を解明するうえで有用な cicutoxin 類縁体が含有されていることが推測された。そこで、新規な毒成分の探索を行い、ドクゼリ根茎より新規化合物 virol A (3) B (4), C (5) を単離し、これらの化合物の平面構造を NMR スペクトルを中心とした各種スペクトルデータをもとに決定した。

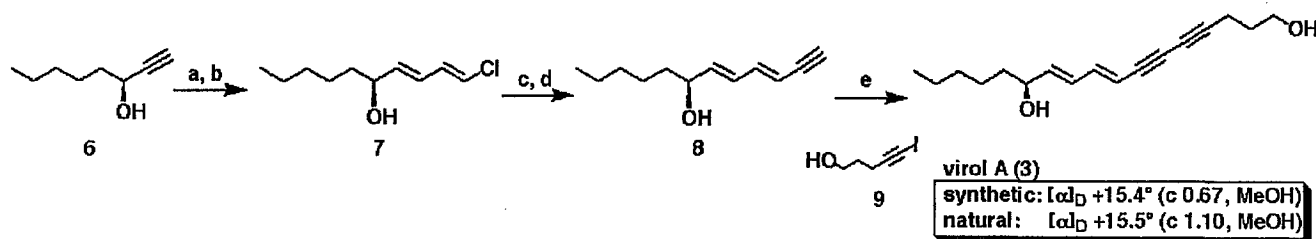
続いて、virol A (3), C (5) に加えて、未だに明らかとされていない cicutoxin (1), isocicutoxin (2) の絶対配置を CD 励起子キラリティー法により決定した。すなわち、これらの化合物の 1 級水酸基を TBDMS 化により保護した後、2 級水産基を *p*-メトキシベンゾイルエステルへと変換し、生成物の CD スペクトルを解析した。その結果、virol A (3), C (5), cicutoxin (1), isocicutoxin (2) の不斉炭素の絶対配置は、それぞれ S, S, R, R であることが判明した。この絶対構造は、<sup>1</sup>H-NMR スペクトル

を利用する新 Mosher 法から得られた結論と一致する。

## 第2章 Virol A, B, C の合成<sup>5)</sup>

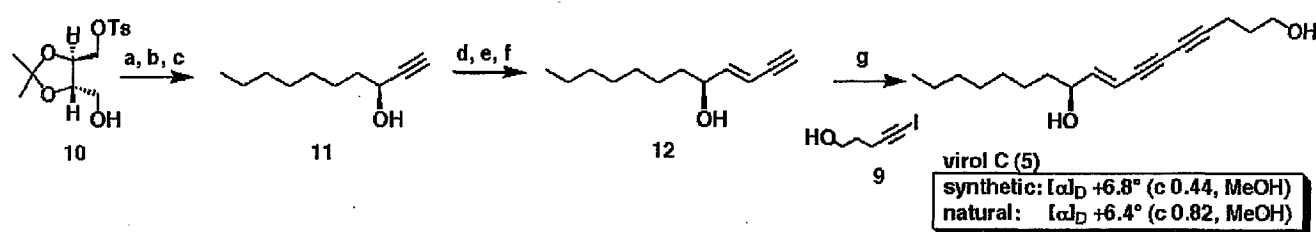
Virol 類はドクゼリに極めて微量しか含有されていない。従って, cicutoxin (1) やその類縁体である Virol 類に代表される多価不飽和アルコールの毒性発現機構を明らかにするためには, 合成によるサンプルの確保が必要であった。さらに, virol 類の合成は, 物理化学的データから得られた virol A (3), C (5) の絶対配置の確認や virol B (4) の絶対配置の決定を意味する。

Virol A (3) は, 化学構造的には共役ジエンジイン部が不斉炭素と隣接した構造を持つ。いかに立体特異的かつ選択的にこの部分を構築するかが virol A (3) 合成の鍵と考えられた。本合成では, パラジウム錯体および銅錯体によるカップリング反応を利用して共役系を構築した。すなわち, (L)-酒石酸ジエチルを不斉源として用いて得た (S)-1-octyn-3-ol (6) を合成素子として, 5 工程で (S)-virol A (3) の合成を達成した。



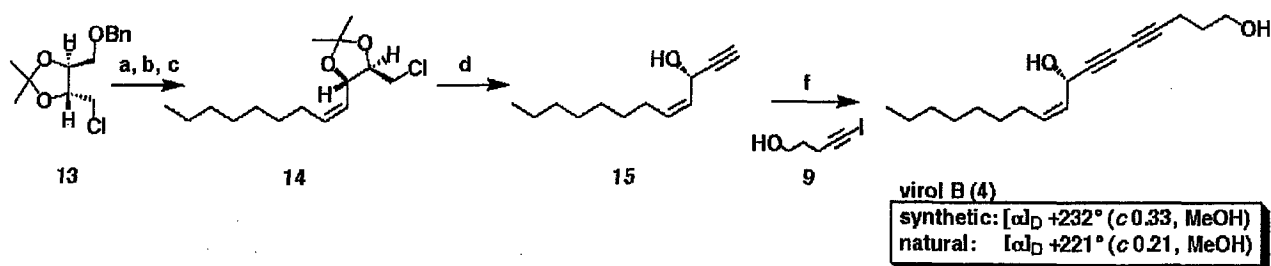
a) *trans*-1,2-dichloroethylene,  $\text{PdCl}_2(\text{PhCN})_2$ , CuI, piperidine (91%); b) Vitride (87%); c) TMS-acetylene,  $\text{PdCl}_2(\text{PhCN})_2$ , CuI, piperidine (81%); d) TBAF (93%); e) CuI, pyrrolidine (67%)

次いで, 同様の手法で virol C (5) を合成した。



a) *n*-hexylcopper lithium; b)  $\text{PPh}_3$ ,  $\text{CCl}_4$  (71 %, 2 steps); c) *n*-BuLi, HMPA (65%); d) *trans*-1,2-dichloroethylene,  $(\text{Ph}_3\text{P})_4\text{Pd}$ , CuI, piperidine (85%); e) Vitride; then sat.  $\text{NH}_4\text{Cl}$  aq. (84%); f) *n*-BuLi, HMPA, THF (77%); g) CuI, pyrrolidine (65%).

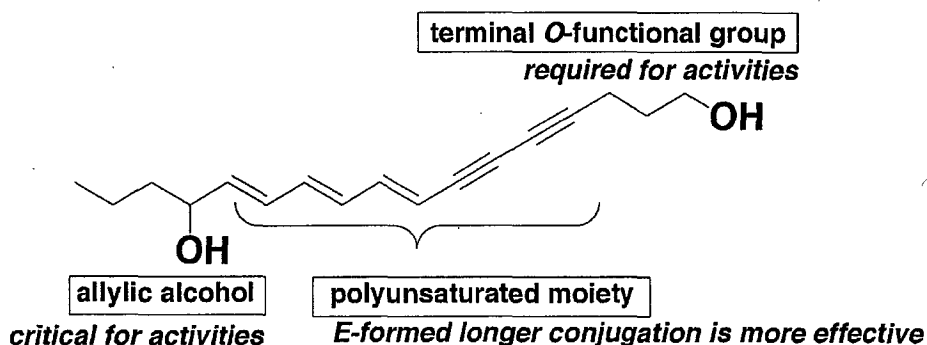
(S)-Virol B (4) は下式に示す経路により合成した。その結果, 合成された virol B (4) と天然から得られた virol B (4) の比旋光度は一致したため, 天然より得られた virol B (4) の絶対配置は S であることが明らかとなった。



a)  $H_2$ , Pd/C (95%); b) Swern oxidation; c) *n*-octyltriphenylphosphonium bromide, *n*-BuLi (54%, 2 steps); d) *n*-BuLi, HMPA (73%); e) CuI, pyrrolidine (91%)

### 第3章 急性毒性に及ぼす多価不飽和アルコールの構造的要因

毒性発現に関与するドクゼリの  $C_{17}$ -多価不飽和アルコールの構造的要因を明らかにするために、cicutoxin (1) をはじめとする多価不飽和アルコールを様々な誘導体へと導いた。多価不飽和アルコールに存在する1級および2級水酸基、共役系の長さと立体化学に注目して誘導体を調製し、それらの急性毒性をマウスを用いて検討した。その結果、下図に示す構造的要因が毒性発現には極めて重要であることが明らかとなった。



### 第4章 電気生理学および受容体結合実験による virol A 誘発痙攣の発現機構の解明

ドクゼリの主要な毒成分である cicutoxin (1) は化学的に極めて不安定なために、取り扱いの問題から薬理学研究には適切でないものと考えられた。そこで、cicutoxin (1) より若干毒性は弱いものの、より安定な化合物である virol A (3) の痙攣発現機構を検討した。行動薬理学実験により、virol A (3) の痙攣発現には  $GABA_A$  受容体が関与していることが既に示唆されていた<sup>6)</sup>。そこで、本研究では virol A (3) の  $GABA_A$  受容体への影響を電気生理学および受容体結合実験により検討した。

膜電位固定下ニスタチン穿孔パッチクランプ法を適用して、急性単離ラット海馬 CA1 錐体細胞における GABA 誘発電流に対する virol A (3) の作用を検討したところ、virol A (3) は濃度依存的に GABA 誘発  $Cl^-$  電流 ( $I_{GABA}$ ) を抑制した。なお、 $I_{GABA}$  に対する virol A (3) の  $IC_{50}$  値は  $9.6 \times 10^{-7} M$  であった。また、virol A (3) は  $I_{GABA}$  の電流-電圧関係に影響を与えず、膜電位が変化しても virol A (3) の  $I_{GABA}$

抑制率に変化はみられなかった。以上の結果から、virol A (3) による  $I_{GABA}$  抑制は膜電位に依存しないことが推測された。さらに、virol A (3) は  $I_{GABA}$  最大応答に変化を与えず、 $I_{GABA}$  の  $EC_{50}$  値を  $6.5 \times 10^{-6}$  M から  $2.1 \times 10^{-5}$  にシフトさせた。従って、virol A (3) が GABA 受容体に対して競合的に拮抗することが示唆された。

GABA<sub>A</sub> 受容体は、GABA 結合部位とともに複数のアロステリック部位を持ち、複雑な薬理学的性質を持っていることが知られている。そこで、GABA<sub>A</sub> 受容体の種々の結合部位に対する受容体結合実験を行った。電気生理学実験からは、virol A (3) は GABA 受容体のアゴニスト結合部位に結合していることが予想されたが、受容体結合実験は、痙攣誘発化合物である picrotoxin の結合部位として知られる  $Cl^{-}$  チャネルに virol A (3) が特異的に結合していることを示した。

## 第5章 多価不飽和アルコールの $Cl^{-}$ チャネルへの結合

$Cl^{-}$  チャネルへの結合に重要な役割を持つ構造的要因を、急性毒性における構造活性相関と比較・検討した。その結果、強い急性毒性を示す化合物ほど、 $Cl^{-}$  チャネルにも特異的に結合する傾向を示し、急性毒性と  $Cl^{-}$  チャネルへの結合の強さに関与する構造的要因には極めてよい一致が見られた。

## 結論と考察

ドクゼリの毒成分 cicutoxin (1), isocicutoxin (2), virol A (3), B (4), C (5) を単離し、これらの絶対構造を、分光学的手法および不斉合成によりそれぞれ *R*, *R*, *S*, *S*, *S* と決定した。さらに cicutoxin (1) やその類縁体の誘導体を用いて構造と急性毒性の相関を検討することにより、毒性発現に重要な構造的要因を明らかにした。すなわち、(1) 1級水酸基の存在およびその酸化状態 (2) 共役系の長さや立体化学 (3) 2級水酸基の存在とそのキラリティーが毒性発現に極めて重要であることを明らかにした。電気生理学実験から、virol A (3) が GABA<sub>A</sub> 受容体の GABA 結合部位に結合することにより、GABA と競合的に拮抗するという結果を得た。一方、受容体結合実験では、virol A (3) は GABA 結合部位ではなく、 $Cl^{-}$  チャネルに特異的に結合するという結果となった。Virol A (3) は  $Cl^{-}$  チャネルに結合し、その結果として、GABA 結合部位への GABA の結合を阻害するものと推測している。また、各種多価不飽和アルコールの受容体結合実験により、 $Cl^{-}$  チャネルへの結合が本化合物群の痙攣誘発の主要経路であることが示唆された。

以上のように、本研究は、ドクゼリに含まれる多価不飽和アルコールが構造的に新しいタイプの痙攣誘発物質であることを明らかにした。

## 引用文献

- 1) Anet, E. F. L. J. ; Silk, M. H. ; Trippet, S., *J. Chem. Soc.*, 1953, 309-322.
- 2) Bohlmann, F. ; Hanel, P., *Chem. Ber.*, 1969, 102, 3293-3297.
- 3) Wittstock, U. ; Hadacek, F. ; Wurcz, G. ; Teuscher, E. ; Greger, H., *Planta Med.*, 1995, 61, 439-445.

- 4) Ohta, T. ; Uwai, K. ; Kikuchi, R. ; Nozoe, S. ; Oshima, Y. ; Sasaki, K. ; Yoshizaki, F., *Tetrahedron*, **1999**, *55*, 12087-12098.
- 5) Uwai, K. ; Oshima, Y. ; Sugihara, T. ; Ohta, T., *Tetrahedron*, **1999**, *55*, 9469-9480.
- 6) 大橋雅津代, 修士学位論文, 東北大学大学院薬学研究科, 1999.

## 審査結果の要旨

身の周りに自生するドクゼリは、ヒトや動物に対して痙攣を引き起こす。誤食による中毒も発生することから、ドクゼリは毒植物として有名である。本研究は、中毒に対する対応、新たな生理活性分子の探索、新しいタイプの抗痙攣薬開発への有用な情報の提供を目的として、ドクゼリの毒成分の性質を天然物化学および薬理学的に解明したものである。

ドクゼリからはポリアセチレン系化合物 *cicutoxin* が主な毒成分として単離されていた。しかしながら、その立体化学はこれまで未確定であった。本研究では、基本成分である *cicutoxin* やその立体異性体である *isocicutoxin* の絶対構造を CD 励起キラルティ法や NMR (Mosher 法) で決定した。さらに、3 種の新規な有毒  $C_{17}$  多価不飽和アルコール *virol A*, *B*, *C* を単離した後、*virol A*, *B* に関しては平面構造を分光学的手法により決定した。

次いで、パラジウムや銅錯体を用いたカップリング反応により共役系を構築し *virol A*, *C* を化学合成した。本合成により *virol A*, *C* の構造が確認された。*virol A*, *C* の合成と同様な方法論に基づいて、*S* 配置をもつ *virol B* を合成したところ、天然から得られた *virol B* の性状と完全に一致した。この結果、*virol B* の構造は絶対配置も含めて決定された。

さらに、電気生理学実験および受容体結合実験により *virol A* が誘発する痙攣の発現機構の解明を試みた。すなわち、膜電位固定下ニスタチン穿孔パッチクランプ法を適用して、急性単離ラット海馬 CA1 錐体細胞における GABA 誘発電流に対する *virol A* の作用を検討した。その結果、*virol A* が GABA 受容体に対して競合的に拮抗することを明らかにした。一方、受容体結合実験は、*virol A* が  $Cl^-$  チャネルに特異的に結合するという結果を示した。これらの実験結果を踏まえて、*virol A* は  $Cl^-$  チャネルに結合し、その結果として、GABA 結合部位への GABA の結合を阻害するという、興味深い痙攣発現機構を提出した。

最後に、天然  $C_{17}$  多価不飽和アルコールからさまざまな誘導体を調製して、 $C_{17}$  多価不飽和アルコールの毒性発現に関与する構造的要因を検討した。その結果、二重結合と三重結合による共役系、酸素官能基が活性発現には必須であることを明らかにした。

本研究は、ドクゼリに含まれる多価不飽和アルコールが、これまでにない作用機構によって痙攣を発現する新しいタイプの痙攣誘発物質であることを示した。すなわち、本研究は、天然物化学分野において興味深い結果を得た。さらに、この結果は神経科学領域に対しても重要な知見を提供している。従って、本論文は博士（薬学）の学位論文として合格と認める。